



# Spinal cerrahide istenmeyen kemik dokusu oluşumunun inhibisyonunda 5-florourasilin etkinliği: Spontan spinal füzyonun sıçan modelinde histolojik değerlendirmesi

Esat KITER<sup>1</sup>, Ertan ER<sup>2</sup>, Nilay ŞEN TÜRK<sup>3</sup>, Murat OTO<sup>1</sup>, Semih AKKAYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Denizli;

<sup>2</sup>Acıpayam Devlet Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Denizli;

<sup>3</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Denizli

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, antiproliferatif bir ajan olan 5-florourasilin (5FU) deneysel sıçan modelinde spinal kemik oluşumunun inhibisyonuna etkisinin araştırılması idi.

**Çalışma planı:** Altı aylık 30 adet Sprague-Dawley sıçan çalışmaya alındı ve 3 grup oluşturuldu. Spontan füzyon modelinde L4-L5 omurlarının posterior elemanlarında noktasal kanama oluşturmak için bisturi ile agresif periostal soyma işlemi gerçekleştirildi. Spinöz çıkıntılar tellerle tespit edildi ve herhangi bir greft materyali uygulanmadı. Grup 1'e Adcon-L, Grup 2'ye tek dokunuş tekniği ile 5FU uygulanırken, Grup 3 kontrol grubunu oluşturdu. Dört hafta sonra sıçanlar sakrifiye edildi ve histolojik inceleme için örnekler alındı.

**Bulgular:** Bu çalışmada 5FU'nun, kontrol grubuna kıyasla, fibroblast ve enflamatuvar hücre yoğunluğu ve kemik formasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği gözlemlendi. Ayrıca, 5FU'nun kemik formasyonu ve enflamatuvar hücrelerin inhibisyonu açısından Adcon-L'ye göre belirgin şekilde üstün olduğu saptandı (p=0.0001).

**Çıkarımlar:** Çalışmamız 5FU'nun spinal cerrahide füzyon, fibrozis ve istenmeyen skar doku oluşumunu inhibe edebildiğini göstermiştir. 5FU'nun lokal uygulama dozuyla ilgili gelecekteki çalışmalar sonrası insanlarda istenmeyen füzyonun inhibisyonu için kullanılabileceği düşüncesindeyiz.

**Anahtar sözcükler:** 5-florourasil; spinal füzyonun inhibisyonu; spontan spinal füzyon.

Prostetik implantlar haricinde, spinal cerrahide füzyon dokunun hedeflenmediği iki prosedür bulunmaktadır. İmmatür (10 yaş altı) omurgalardaki cerrahi girişimler, genelde füzyon elde etme amacıyla yapılmaz. Bu yaş döneminde yapılan füzyonlarda spinal dekompenzasyon ve spinal uzunlukta kısalık gözlenmesi non-füzyon tekniklerin geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Bu tekniklerin temel hedefi, nihai füzyon prosedürü gerçekleşene ya

da omurganın yeterli matürasyonu sağlanıncaya dek omurgayı aşırı deformasyondan korumaktır. Bununla birlikte, periosteal bir sıyrık bile immatür bir omurgada füzyona neden olabileceğinden, bu tekniklerde de immatür omurganın cerrahi olarak açılmasına bağlı olarak istenmeyen spontan füzyonlar gelişebilir.<sup>[1-7]</sup> Füzyonun istenmediği diğer bir prosedür de dejeneratif spinal hastalıkların tedavisinde başvuru olan dekompresyon cerrahi-

**Yazışma adresi:** Dr. Esat Kiter, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 20070 Kınıklı, Denizli.

Tel: +90 258 – 296 24 02 e-posta: esatkiter@gmail.com

**Başvuru tarihi:** 15.01.2013 **Kabul tarihi:** 10.07.2013

©2014 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu

www.aott.org.tr adresinde

doi: 10.3944/AOTT.2014.3161

Karekod (Quick Response Code)



sidir. Aslında bu prosedürde, füzyonun kontrol altında tutulması gerekir. Füzyon ve dekompresyon gerektiren dejeneratif spinal hastalıklarda cerrahi sonrası restenoz sorun yaratabilir. Henüz kanıtlanmamış olmakla birlikte, kemik morfojenetik proteini (bone morphogenetic protein, BMP) gibi osteogenetik ajanların kullanıldığı durumlarda restenoz açısından potansiyel bir risk bulunduğundan düşünülmektedir.<sup>[8-10]</sup>

Spinal füzyon istenilen bir sonuç olduğu için literatürdeki birçok çalışma çeşitli ilaçların füzyon üzerine negatif etkisi ve bu etkinin önlenmesi üzerinde durmuştur. Bu nedenle, füzyon inhibisyonu oluşturmaya yönelik tasarlanan çalışma sayısı kısıtlıdır. Literatürde lokal ajanlar uygulanarak füzyon inhibisyonunu değerlendiren çalışmalar fibrin yapıştırıcı ve Adcon-L ile yapılmıştır.<sup>[10,11]</sup> Fibrin yapıştırıcının füzyon üzerine etkisine dair farklı görüşler öne sürülmekle birlikte, greft materyallerini bir arada tutarak füzyon üzerine olumlu bir etkide bulunduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.<sup>[12]</sup> Öte yandan, Adcon-L, lezyon bölgesine proliferatif hücrelerin göçünü önlediği düşünüldüğünden, adezyon ve fibrozisin inhibisyonu için kullanılan bir biyomateryaldir. Aynı prensiple füzyonu inhibe ettiği de gösterilmiştir.<sup>[11]</sup> Son yıllarda, klasik bir antiproliferatif ajan olan 5-florourasilin oftalmolojik girişimlerde ve el cerrahisinde fibrozisi önlemeye yönelik kullanıldığı bilinmektedir. Çalışmamızı 5FU'nun spinal füzyonun inhibe edilmesinde Adcon-L kadar etkili olabileceği tezi üzerine kurduk.

Bu çalışmada, lokal 5FU uygulamasının spinal füzyon üzerine inhibitör etkisinin sıçan modeli kullanılarak araştırılması hedeflenmektedir.

## Gereç ve yöntem

Bu çalışma, kurumumuz bünyesindeki Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra yapılmıştır.

Öncelikle, spontan spinal füzyon açısından geçerli bir model oluşturmak üzere iki adet 2 haftalık immatür Sprague-Dawley türü sıçanda torasik bölgede posterior omurga açığa çıkarıldı. Bistüri ile tüm kaslar subperiosteal olarak sıyrıldı. Hayvanlar 4 hafta sonra sakrifiye edilirken, osseöz veya fibröz bir proliferasyon gözlenmedi. Daha uygun bir spontan füzyon modeli elde etmek için işleme spinöz çıkıntının tellenmesi eklendi ve bu amaçla iki immatür sıçan daha opere edildi. Bununla birlikte, küçük posterior elemanlar nedeniyle optimum tespit sağlanamadı. İki adet 6 aylık Sprague-Dawley sıçanda agresif subperiosteal sıyırma ve spinöz çıkıntı tellenmesi beraber uygulandı. Teller cerrahi sonrası 4. haftada çıkarıldıktan sonra, opere edilmeyen segmentlerle karşılaştırıldığında ciddi proliferatif değişiklikler gözlenmesi

üzerine bu işlem çalışma modeli olarak belirlendi.

Otuz adet 6 aylık Sprague-Dawley türü sıçan çalışmaya alındı ve 3 gruba ayrıldı. Grup 1 Adcon-L (Adcon-L Adhesion Control Gel®; Gliatech Inc., Cleveland, OH, ABD) ile tedavi edilirken Grup 2'ye 5FU (5-Fluorouracil®; Choongwae Pharma Corp., Seul, Güney Kore) verildi. Grup 3 ise kontrol grubu olarak kullanıldı.

Anestezi 10 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun®; Bayer AG, Leverkusen, Almanya) ve 40 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®; Eczacıbaşı, İstanbul) ile yapıldı. Sonrasında operasyon alanı tıraşlandı ve steril koşullar altında operasyona hazırlandı. Orta hat insizyonu yapıldıktan sonra L4-L5 lomber omurganın posterior elemanlarına ulaşıldı ve kaslar sıyrıldı. Sıyırma işlemi sırasında koter kullanılmadı. Lamina üzerinde noktasal kanamalar oluşana dek bistüri ile tüm kas dokusu ve kemik periostu sıyrıldı. L4-L5 tespiti için spinöz çıkıntıda 0.3 mm kalınlığındaki teller kullanıldı. Grup 1'de her bir hayvanın L4-L5 vertebranın açığa çıkarılmış posterior elemanlarına kendi aparatı ile 50 µl Adcon-L uygulandı. Grup 2'de operasyon alanında 10 ml serum fizyolojik ile irrigasyon sonrasında tek-dokunuş tekniğiyle ve bir spanç kullanılarak vertebraya 5 dakika boyunca 5FU uygulandı.<sup>[13]</sup> Grup 3'te (kontrol grubu) operasyon alanına sadece 10 ml serum fizyolojik uygulandı.

Hayvanlarda postoperatif ambulatuar aktiviteler ve yara iyileşme süreci günlük olarak takip edildi. Hiçbir grupta nörolojik defekt, enfeksiyon veya kutanöz iyileşmede farklılık gözlenmedi. Sıçanlar cerrahi sonrası 28. günde intravenöz yüksek doz sodyum pentotal (100 mg/kg) ile sakrifiye edildi ve histolojik inceleme için önceden yapılmış insizyondan en blok olarak lomber vertebranın tamamı çıkarıldı.

Histolojik inceleme için, vertebralar %10 formaldehit solüsyonu içerisinde tespit fikse edildikten sonra %10 formik asit ve %8 HCl ile 2 gün dekalsifiye edildi. Bundan sonra, örneklerden 5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı ve hematoksilin-eozin (HE) ve Mason trikrom (MT) ile boyandı.

Her bir denek için üç kesitten üç farklı alanda hücreler sayıldı. Aynı şekilde, x400 büyütme altında enflamatuar hücreler de (polimorf nükleer hücreler, lenfositler ve monositler) sayıldı. Skar dokusunda fibroblastların yoğunluğunu hesaplamak için He ve Revel'in kriterleri kullanıldı.<sup>[14]</sup> Yeni kemik oluşumu ve neovaskülarizasyon mikroskopik olarak Emery ve ark.'nın kriterlerine göre değerlendirildi (0-3: yeni kemik yok - maksimum yeni kemik ve 0-3: neovaskülarizasyon - maksimum neovaskülarizasyon) (Tablo 1).<sup>[15]</sup> Preparatlar skarlaşma derecesi, enflamasyon, enfeksiyon ve Adcon-L rezorbsiyonu açısından histopatolojik olarak değerlendirildi.

**Tablo 1.** 5FU grubundaki yeni kemik oluşumu ve enflamatuvar hücre yoğunluğu inhibisyonu belirgin olarak diğer gruplardan farklıdır.

Gruplar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ortalama
Yeni kemik oluşumu*											
Adcon-L	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	
5FU	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0	
Kontrol	2	3	3	3	1	0	2	2	3	0	
Fibroblast yoğunluğu†											
Adcon-L	161	129	175	138	117	69	134	113	76	103	121.5
5FU	115	95	130	131	144	125	111	98	140	110	119.9
Kontrol	292	210	157	204	242	199	158	186	218	141	200.7
Enflamatuvar hücre yoğunluğu‡											
Adcon-L	4	15	4	5	15	25	15	2	20	12	11.7
5FU	4	3	2	1	2	2	1	1	1	1	1.8
Kontrol	5	5	3	4	6	19	7	3	4	3	5.9
Neovaskülarizasyon§											
Adcon-L	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	
5FU	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	
Kontrol	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	

\*Yeni kemik oluşumunun semi-kantitatif değerlendirmesi Emery ve ark.'nın<sup>[15]</sup> kriterlerine göre yapıldı. 0: Yeni kemik oluşumu yok, 1: Minimum seviyede yeni kemik oluşumu, 2: Orta seviyede kemik oluşumu, 3: Maksimum seviyede kemik oluşumu. †Fibroblast sayımı her örnekten alınan 3 kesitte, üç farklı alanda x400 büyütme yapıldı ve bu değerlerin ortalamaları çalışmada kullanıldı. ‡Polimorfonükleer hücreler, lenfositler ve monositler her örnekten alınan 3 kesitte, üç farklı alanda x400 büyütme yapıldı ve bu değerlerin ortalamaları çalışmada kullanıldı. §Neovaskülarizasyonun değerlendirilmesi Emery ve ark.'nın<sup>[15]</sup> kriterlerine göre yapıldı. 0: Neovaskülarizasyon yok, 1: Minimum seviyede neovaskülarizasyon, 2: Orta seviyede neovaskülarizasyon, 3: Maksimum seviyede neovaskülarizasyon.

Veriler "Statistical Program for Social Science v.10.0" yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U-testleriyle analiz edildi. Anlamlılık seviyesi  $p < 0.05$  olarak belirlendi.

## Bulgular

Adcon-L grubundaki yeni kemik oluşumunun %90'ı Grade 3 iken, 5FU grubunda yeni kemik oluşumunun %80'i Grade 0 idi (Şekil 1) (Tablo 1). Kontrol grubunda yeni kemik oluşumu daha çok Grade 2 ve 3 idi. 5FU ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ( $p=0.0001$ ).

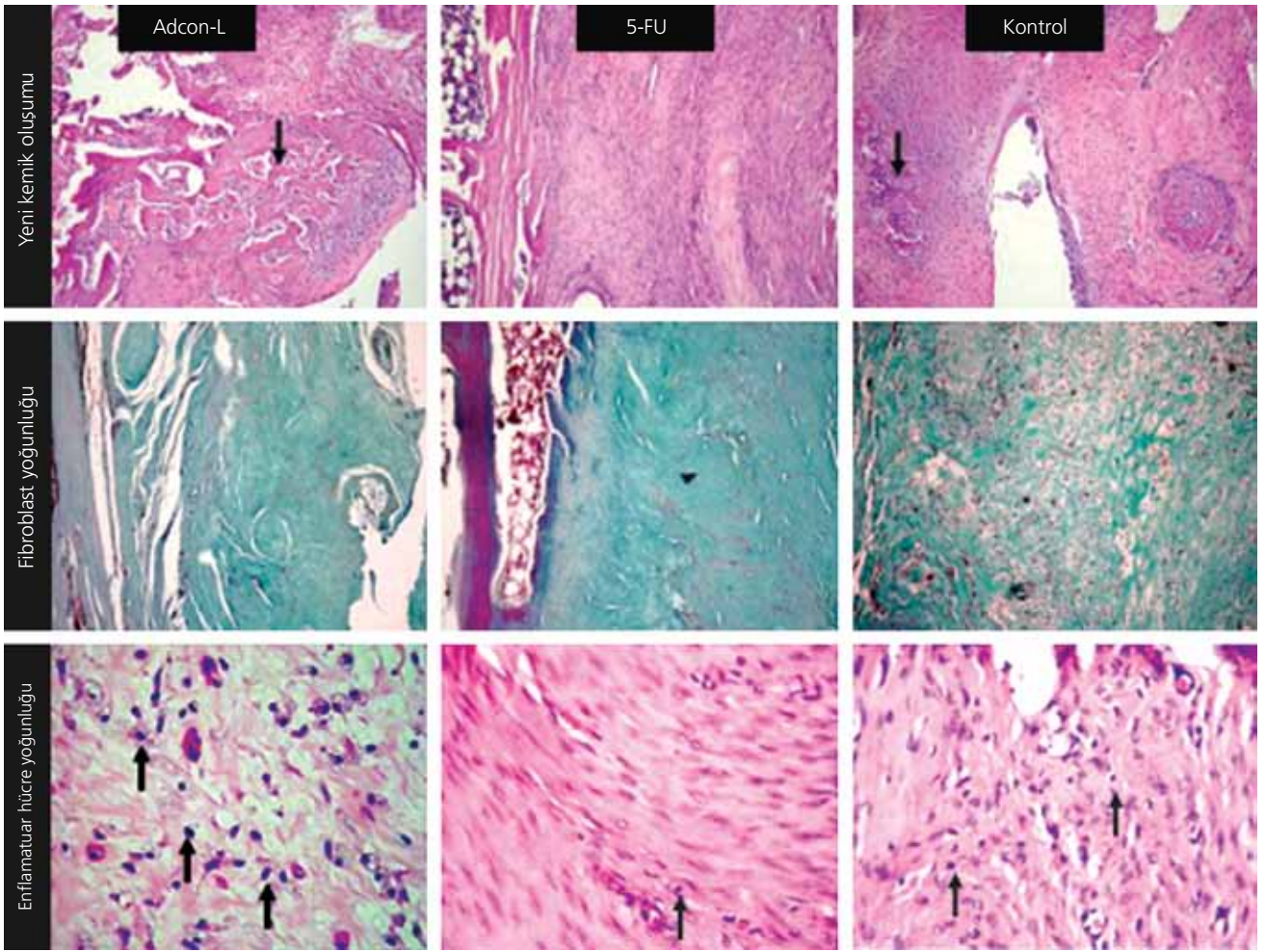
Fibroblast yoğunluğu Adcon-L ve 5FU gruplarında düşüktü. He ve Revel<sup>[14]</sup> kriterlerine göre hem Adcon-L hem de 5FU gruplarında Grade 2 fibroblastlar için %70 yoğunluk ve yine kontrol grubunda Grade 3 fibroblastlar için %70 yoğunluk gözlemlendi (Tablo 1). Adcon-L ve 5FU kullanımının fibroblast yoğunluğunu kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalttığı gözlemlendi ( $p=0.0001$ ).

Adcon-L grubunda enflamatuvar hücre sayısı artarken 5FU grubunda azalmıştı. x400 büyütme altında ortalama enflamatuvar hücre sayısının Adcon-L grubunda 11.7, 5FU grubunda 1.8 ve kontrol grubunda 5.9 olduğu kaydedildi (Şekil 1) (Tablo 1). 5FU ve kontrol grupları arasında enflamatuvar hücre yoğunluğu açısından anlamlı bir fark vardı ( $p=0.0001$ ).

Kesitlerin Emery ve ark.'nın kriterlerine<sup>[15]</sup> göre neovaskülarizasyon açısından değerlendirilmesinde tüm gruplarda Grade 2 neovaskülarizasyonun baskın olduğu gözlemlendi. Gruplar arasında ise bir fark yoktu ( $p=0.1140$ ). Ajanların hiçbirinin neovaskülarizasyon üzerine negatif veya pozitif bir etkisinin olmadığı görüldü. Adcon-L grubundaki deneklerin yarısında Adcon-L rezorbe olmamıştı.

## Tartışma

Spontan, diğer bir deyişle istenmeden oluşan füzyon, spinal cerrahi literatüründe kabul edilmiş bir sorundur.<sup>[1-7]</sup> Spontan füzyonda, sadece osseöz köprüleşme değil, aynı zamanda aşırı fibröz reaksiyon da omurgayı etkileyebilir ve hareket yeteneğine sekte vurabilir.<sup>[16,17]</sup> Füzyonsuz, Luque enstrümantasyonunun kullanıldığı olgularda spontan füzyon ve fibrozis, deformitenin düzeltilmesini engellemekle kalmayıp, krank şaft deformitesine de yol açabilir.<sup>[6,18]</sup> İmmatür omurgalarda spontan füzyondan aşırı iyileşme potansiyeli sorumlu tutulmakla birlikte, küçük deri insizyonu, minimal kas sıyrılması, etkili homeostaz, yara bölgesi irrigasyonu ve subfasial veya subkutanöz yöntemler gibi tedbirsel adımlara rağmen spontan füzyon bulunan olguların sayısında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Cahill ve ark.'nın çalışmasında, nihai füzyon cerrahisine giden 9 immatür hastanın spinal segmentlerinde %89 oranında spontan füzyon bildirilmiştir.<sup>[7]</sup>



**Sekil 1.** Yeni kemik oluşumu. Oklar yeni kemik oluşum odaklarını göstermektedir. Adcon-L grubunda Grade 3, kontrol grubunda Grade 2 kemik oluşumu gösterilmektedir. (HE, x10). Her iki ajan da fibroblast yoğunluğunu anlamlı olarak azaltmaktadır (MT, x10). 5FU grubunda enflamatuvar hücre yoğunluğunun anlamlı derecede daha az olduğu görülüyor. Ters oklar enflamatuvar hücreleri göstermektedir (HE, x40). [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

Spinal cerrahide farmasötik ajanlarla istenmeyen füzyonun inhibisyonu az sayıda çalışmada değerlendirilmiştir. Zou ve ark.'nın<sup>[11]</sup> çalışmasında, Adcon-L'nin spontan füzyonu bir dereceye kadar inhibe ettiği bildirilmektedir. Bu deneysel çalışmada, transvers çıkıntıların bilateral dekortikasyonu sonrasında yazarlar bir taraftaki iliyağ kanattan alınan bir otogrefti kullanarak intertransvers füzyon yaparken, diğer tarafta aynı miktarda otogreft ve Adcon-L içeren bir karışım kullanmışlardır. Bu modelin ve farklı deneysel çalışmalarda kullanılan diğer füzyon modellerinin spontan füzyonu tam olarak simüle etmediğini düşündüğümüz için, çalışmamızda, agresif sıyırma ve spinöz çıkıntı tel uygulaması hariç hiçbir yöntemin füzyon veya fibrozisi tetiklemeyeceği yeni bir model oluşturduk. Genelde greft materyallerini bir arada tutan bir taşıyıcı görevi gören fibrin yapıştırıcı da, füzyonun istenmediği alanlarda BMP'lerin ve greft materyalleri-

nin migrasyonunu ve dağılımını önlediği düşünülmekle birlikte benzer amaçlarla kullanılmaktadır.<sup>[9,10]</sup> Bununla birlikte, fibrin yapıştırıcı füzyonu inhibe etmekten ziyade kontrol altında tutmaya yarayan bir ajandır ve özellikle de dekompresif cerrahi açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızda kullanılan ajanların her ikisi de farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Antiproliferatif bir ajan olan 5-florourasil, florlu bir pirimidin analogudur ve trabekülektomi ve glokom filtrasyon cerrahisi sonrasında fibrozisi önlemek amacıyla topikal bir ajan olarak kullanılmaktadır.<sup>[19,20]</sup> Deneysel çalışmalarda tendon onarımları sonrası fibrotik adezyonları azalttığı da ayrıca gösterilmiştir.<sup>[21-23]</sup> Beş dakikalık, tek-dokunuş yöntemi kullanılmasının amacı 5FU'nun antiproliferatif etkilerinden faydalanırken yan etkilerinden kaçınmaktır. Bu teknik, hücre ölümüne yol açmaz, ancak, hücre iskeletinin hücresel mRNA'larını etkileyerek ve DNA sentezinin

de takip edilen normal kimyasal yollarını inhibe ederek hücrelerin metabolizması ve davranışını değiştirir.<sup>[13,23,24]</sup> Öte yandan, Adcon-L, fosfat tamponlu bir solüsyon içerisinde abzorbe edilebilen poliglukan esterleri ve bir jelatinden oluşmaktadır ve primer etki mekanizması fibroblastların göçüne karşı mekanik bir bariyer gibi davranmaktadır.<sup>[25]</sup>

Çalışmanın histolojik sonuçlarına göre, her iki ajan operasyon alanındaki iyileşme sürecini etkilemektedir. Her iki ajanın da fibrotik dokuyu azalttığı bulunmuştur. Bununla birlikte, 5FU ve Adcon-L grupları arasında kemik oluşumu açısından anlamlı bir fark bulunmaktaydı. Bu anlamlı farklılığın nedenini açıklayamamak da, Adcon-L'nin abzorpsiyonuna dair gecikmenin iyileşme süreci üzerinde farklı bir etkiye sahip olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda Adcon-L, uygulandığı gruptaki deneklerin yarısında abzorbe olmamıştır. Zou ve ark.<sup>[11]</sup> da benzer bir sonuç elde etmişlerdir. Bununla birlikte, çalışmamızda gözlenen enflamatuvar hücre sayısındaki anlamlı yükseklik Adcon-L'nin bu gecikmiş abzorpsiyonuyla ve Adcon-L partiküllerinin antijenik özellikleriyle ilişkili olabilir. Bu farklılığı açıklayabilecek diğer bir faktör de, yukarıda tanımlanan şekilde ajanların etki mekanizmasıdır.

Manuel ve radyolojik değerlendirmelerin bulunmaması ve değerlendirilen alanın küçük olması nedeniyle iki vertebra arasındaki hareketin değerlendirilmesinde rastlanan sorunlar bu çalışmanın temel kısıtlılığıdır.<sup>[26]</sup> Bu çalışmada greft materyali kullanılmamıştır. Posterior omurgada bir füzyon kitlesi saptanmamış ve hem radyolojik hem de manuel olarak osseöz köprüleşmeyi gözlememiz bu nedenle mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak, Adcon-L ile karşılaştırıldığında 5FU'nun kemik oluşumu, fibroblast ve enflamatuvar hücre inhibisyonu açısından anlamlı derecede daha üstün olduğu gözlenmiştir ( $p=0.0001$ ). Bu bulgular, 5FU'nun spinal cerrahide füzyon, fibrozis ve istenmeyen iyileşme dokusunu başarılı şekilde inhibe edebildiğini göstermektedir. 5FU bu açıdan ümit verici bir ajan olmakla birlikte, insan omurgasında kullanımı için uygun dozajı ve uygulama tekniğini belirleyecek başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Çıkar örtüşmesi:** Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

## Kaynaklar

- Mardjetko SM, Hammerberg KW, Lubicky JP, Fister JS. The Luque trolley revisited. Review of nine cases requiring revision. *Spine* 1992;17:582-9.
- Blakemore LC, Scoles PV, Poe-Kochert C, Thompson GH. Submuscular Isola rod with or without limited apical fusion in the management of severe spinal deformities in young children: preliminary report. *Spine* 2001;26:2044-8.
- Acaroglu E, Yazici M, Alanay A, Surat A. Three-dimensional evolution of scoliotic curve during instrumentation without fusion in young children. *J Pediatr Orthop* 2002;22:492-6.
- Moe JH, Kharrat K, Winter RB, Cummine JL. Harrington instrumentation without fusion plus external orthotic support for the treatment of difficult curvature problems in young children. *Clin Orthop Relat Res* 1984;185:35-45.
- Eberle CF. Failure of fixation after segmental spinal instrumentation without arthrodesis in the management of paralytic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am* 1988;70:696-703.
- Fisk JR, Peterson HA, Laughlin R, Lutz R. Spontaneous fusion in scoliosis after instrumentation without arthrodesis. *J Pediatr Orthop* 1995;15:182-6.
- Cahill PJ, Marvil S, Cuddihy L, Schutt C, Idema J, Clements DH, et al. Autofusion in the immature spine treated with growing rods. *Spine* 2010;35:E1199-203.
- Poynton AR, Lane JM. Safety profile for the clinical use of bone morphogenetic proteins in the spine. *Spine* 2002;27(16 Suppl 1):40-8.
- Patel VV, Zhao L, Wong P, Kanim L, Bae HW, Pradhan BB, et al. Controlling bone morphogenetic protein diffusion and bone morphogenetic protein-stimulated bone growth using fibrin glue. *Spine* 2006;31:1201-6.
- Patel VV, Zhao L, Wong P, Pradhan BB, Bae HW, Kanim L, et al. An in vitro and in vivo analysis of fibrin glue use to control bone morphogenetic protein diffusion and bone morphogenetic protein-stimulated bone growth. *Spine J* 2006;6:397-404.
- Zou X, Li H, Egund N, Lind M, Bünger C. Inhibition of spinal fusion by use of a tissue ingrowth inhibitor. *Eur Spine J* 2004;13:157-63.
- Abiraman S, Varma HK, Umashankar PR, John A. Fibrin glue as an osteoinductive protein in a mouse model. *Biomaterials* 2002;23:3023-31.
- Khan U, Occleston NL, Khaw PT, McGrouther DA. Single exposures to 5-fluorouracil: a possible mode of targeted therapy to reduce contractile scarring in the injured tendon. *Plast Reconstr Surg* 1997;99:465-71.
- He Y, Revel M, Loty B. A quantitative model of post-laminectomy scar formation. Effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 1995;20:557-63; discussion 579-80.
- Emery SE, Brazinski MS, Koka A, Bensusan JS, Stevenson S. The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:540-8.
- Rinsky LA, Gamble JG, Bleck EE. Segmental instrumentation without fusion in children with progressive scoliosis. *J Pediatr Orthop* 1985;5:687-90.



17. Tello CA. Harrington instrumentation without arthrodesis and consecutive distraction program for young children with severe spinal deformities. Experience and technical details. *Orthop Clin North Am* 1994;25:333-51.
18. Morin MR. Pediatric Cotrel-Dubousset instrumentation system. In: Bridwell KH, DeWald RL, editors. *Spinal surgery*. Philadelphia, PA: JB Lippincott; 1991. p. 212-7.
19. Anand N, Sahni K, Menage MJ. Modification of trabeculectomy with single-dose intraoperative 5-Fluorouracil application. *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76:83-9.
20. Mora JS, Nguyen N, Iwach AG, Gaffney MM, Hetherington J Jr, Hoskins HD Jr, et al. Trabeculectomy with intraoperative sponge 5-fluorouracil. *Ophthalmology* 1996;103:963-70.
21. Zhao C, Zobitz ME, Sun YL, Predmore KS, Amadio PC, An KN, et al. Surface treatment with 5-fluorouracil after flexor tendon repair in a canine in vivo model. *J Bone Joint Surg Am* 2009;91:2673-82.
22. Moran SL, Ryan CK, Orlando GS, Pratt CE, Michalko KB. Effects of 5-fluorouracil on flexor tendon repair. *J Hand Surg Am* 2000;25:242-51.
23. Khaw PT, Sherwood MB, MacKay SL, Rossi MJ, Schultz G. Five-minute treatments with fluorouracil, floxuridine, and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1150-4.
24. Akali A, Khan U, Khaw PT, McGrouther AD. Decrease in adhesion formation by a single application of 5-fluorouracil after flexor tendon injury. *Plast Reconstr Surg* 1999;103:151-8.
25. Geisler FH. Prevention of peridural fibrosis: current methodologies. *Neurol Res* 1999;21 Suppl 1:S9-22.
26. Zhu W, Rawlins BA, Boachie-Adjei O, Myers ER, Arimizu J, Choi E, et al. Combined bone morphogenetic protein-2 and -7 gene transfer enhances osteoblastic differentiation and spine fusion in a rodent model. *J Bone Miner Res* 2004;19:2021-32.